

(12)

**DEMANDE DE BREVET EUROPEEN**

(21) Numéro de dépôt: 80401033.8

(51) Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 D 519/02

(22) Date de dépôt: 09.07.80

(30) Priorité: 10.07.79 FR 7917860

(43) Date de publication de la demande:  
14.01.81 Bulletin 81/2

(84) Etats Contractants Désignés:  
AT BE CH DE GB IT LI LU NL SE

(71) Demandeur: PIERRE FABRE S.A.  
125, rue de la Faisanderie  
F-75116 Paris(FR)

(72) Inventeur: Hatinguais, Philippe  
"Le Landou" Chemin de Bel Air  
F-81100 Castres(FR)

(72) Inventeur: Tarroux, Roger  
122, rue Théron Périer  
F-81100 Castres(FR)

(74) Mandataire: Corre, Jacques Denis Paul et al,  
Cabinet Regimbeau 26, Avenue Kléber  
F-75116 Paris(FR)

(54) Procédé de préparation de l'ergotamine et des alcaloïdes du groupe ergotoxine.

(57) La présente invention concerne un nouveau procédé de préparation de l'ergotamine et des alcaloïdes du groupe ergotoxine.

Le procédé de l'invention est caractérisé en ce qu'on réalise les opérations successives suivantes :

- a) préparation des sclérotas par broyage d'ergot de seigle (*Claviceps purpurea*) ;
- b) isolement du totum d'alcaloïdes ;
- c) purification des alcaloïdes totaux; et
- d) séparation chromatographique de l'ergotamine et des autres alcaloïdes lévogyres.

Application dans la préparation de médicaments.

EP 0 022 418 A1

BEST AVAILABLE COPY

Procédé de préparation de l'ergotamine et  
des alcaloïdes du groupe ergotoxine

La présente invention réalisée au Centre de Recherches Pierre Fabre a pour objet un nouveau procédé industriel d'isolement des alcaloïdes de l'ergot de seigle, en particulier de l'ergotamine et des alcaloïdes du groupe ergotoxine, qui sont des alcaloïdes utiles en thérapeutique humaine.

Plusieurs procédés ont été décrits pour l'extraction des alcaloïdes de l'ergot de seigle, mais de façon générale ils se sont révélés inapplicables à une exploitation industrielle en raison de la grande instabilité des alcaloïdes et des faibles rendements obtenus.

L'extraction est généralement réalisée à partir de l'ergot de seigle pulvérisé, préalablement dégraissé à l'aide d'éther de pétrole ou d'hexane. Les solvants les plus couramment utilisés sont l'alcool, les mélanges hydroalcooliques (SANDOZ, 1929, DP 47315) l'acétone (ARZNEIMITTEL WERKE, 1962, DP 1240871) (RICHTER GEDEON, 1966, Hongrie n° 152934) le méthanol aqueux (L. VOGEL, DP 697760). Les extractions sont réalisées en milieu alcalin, par addition de carbonate ou bicarbonate de sodium, ou d'ammoniaque. Plus rares sont celles effectuées en milieu acide : trichloréthyl-

lène et acide acétique (KUCZYNSKI, 1957, Pologne n° 40884) méthanol et acide tartrique (L. VOGEL, 1937, DP 697760).

5 L'extraction sans dégraissage préalable est réalisée avec un solvant non miscible à l'eau tel que le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène, le toluène, le chlorure de méthylène ou le dichloréthane (LEK, 1971, 71 11666).

10 A partir de ce premier extrait les alcaloïdes sont obtenus par concentration et extraction liquide-liquide par une solution acide (JOHN WYETH and BROTHER, Incorporated, 1935, US 2 120 635) par fixation sur des résines cationiques (KUCZYNSKI, 1957, Pologne 40 884) ou sur colonne d'Alumine (LEK, 1971, 15 Hongrie 71.11666). Dans ce dernier cas, l'élution de l'ensemble des alcaloïdes est réalisée par addition de méthanol ou d'éthanol sans qu'il y ait séparation individuelle de ceux-ci.

20 La plupart des procédés décrits antérieurement ne tiennent pas compte de la facilité de décomposition et de transformation en isomères inactifs. L'ergotamine est particulièrement fragile en milieu alcalin, ce qui proscriit toutes les extractions initiales en milieu sodique ou ammoniacal. En outre, les opérations 25 décrites entraînent, à l'échelle industrielle, des durées incompatibles avec l'instabilité des alcaloïdes. D'autre part, les techniques antérieures décrivent le plus souvent l'isolement d'un seul alcaloïde, ce qui ne présente aucun intérêt sur le plan économique. Il faut 30 également souligner que toutes les techniques mettant en oeuvre des extractions liquide-liquide (par exemple brevet tchèque n° 113109), qui sont particulièrement délicates à mettre en oeuvre lorsque les alcaloïdes sont impurs en raison d'émulsions très stables. La mise en 35 oeuvre de résines cationiques (brevet polonais n° 40884)

nécessite des débits très faibles, de ce fait l'exploitation industrielle conduit à des dégradations importantes.

5 Conformément au procédé de la présente invention, on réalise les opérations successives suivantes :

- a) préparation des sclérotés par broyage d'ergot de seigle (*Claviceps purpurea*) ;
- b) isolement du totum d'alcaloïdes ;
- 10 c) purification des alcaloïdes totaux ; et
- d) séparation chromatographique de l'ergotamine et des autres alcaloïdes lévogyres.

15 Selon une caractéristique importante particulière de la présente invention, la séparation de l'ergotamine et des autres alcaloïdes lévogyres est réalisée par chromatographie sur alumine acide.

Le procédé objet de la présente invention offre les avantages suivants par rapport aux techniques antérieures :

- 20 - simplicité du procédé ne comportant que quatre étapes principales ;
- rendement au moins égal à 70 % ; et
- absence d'isomérisation et de dégradations importantes.

25 En outre, le procédé de l'invention offre la possibilité de recycler les solvants et l'alumine acide, de stocker intermédiairement les alcaloïdes et d'introduire les isomères dextrogyres à l'étape b) après avoir procédé à une rétro-isomérisation.

30 D'autres caractéristiques et avantages du procédé de l'invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée faite ci-après, notamment à propos d'un exemple particulier de mise en oeuvre.

35 Il a tout d'abord été démontré que la granulométrie de l'ergot de seigle broyé était particulière-

ment importante, et que des particules de dimensions supérieures à 0,5 mm ne sont que très difficiles à épuiser, et ceci même après une macération de plusieurs heures.

5 Il a par ailleurs été constaté que la vitesse d'extraction se trouvait considérablement améliorée lorsque les sclérotés étaient soumis à un écrasement dans un appareil dont la distance entre les pièces mobiles est de l'ordre de 0,2 - 0,5 mm.

10 Selon un mode de mise en oeuvre préférentiel du procédé de l'invention les sclérotés sont au préalable imprégnés d'eau de façon à rendre la matière plus molle et à faciliter son écrasement.

15 De façon surprenante, le rendement d'extraction a ainsi pu être augmenté de 10 à 20 % comparativement aux techniques antérieures connues. Il convient enfin de noter que l'eau peut être remplacée par une solution alcaline, ce qui permet d'assurer simultanément une dépigmentation.

20 Au cours de l'étape b), le totum des alcaloïdes peut être avantageusement obtenu, sans dégraisage préalable, au moyen d'un solvant miscible ou partiellement miscible avec l'eau. Bien que les cétones ou les alcools conduisent à des résultats convenables, 25 l'utilisation de l'acétate d'éthyle a été préférée. Dans tous les cas, le solvant utilisé a été additionné d'une solution aqueuse d'acide minéral ou organique, ce qui permet une bonne stabilisation chimique des alcaloïdes. Parmi les acides les plus avantageux on citera à titre 30 d'exemple l'acide chlorhydrique, sulfurique, phosphorique, citrique et plus spécialement l'acide tartrique, sans que la teneur exacte en eau ou en acide soit limitative. Selon un mode de mise en oeuvre préféré du procédé de l'invention, le solvant organique contiendra 35 sensiblement de 5 à 10 % d'une solution aqueuse conte-

nant d'environ 1 à environ 5 % d'acide.

Après concentration, le solvant organique contenant les sels d'alcaloïdes est précipité par addition d'un non solvant. Selon un mode de précipitation préféré, les sels d'alcaloïdes sont obtenus par pré-concentration de l'extrait organique, puis addition d'heptane et évaporation du solvant d'extraction résiduel. Ce procédé permet l'évaporation du solvant d'extraction sans l'intermédiaire de l'extrait mou, difficile à manipuler sans perte à l'échelle industrielle.

Les alcaloïdes bruts ainsi obtenus se présentent sous forme d'une poudre brune, qui peut éventuellement être conservée plusieurs mois sans la moindre altération.

L'étape c) du procédé de l'invention consiste en une purification des alcaloïdes totaux. Les alcaloïdes obtenus à l'issue de l'étape b) sont solubilisés dans un solvant non miscible ou partiellement miscible à l'eau, de préférence l'acétate d'éthyle, duquel les alcaloïdes sont extraits par une solution aqueuse acide. Parmi les acides utilisés, on mentionnera à titre d'exemple les acides chlorhydrique, sulfurique, phosphorique, citrique et plus particulièrement tartrique.

La phase aqueuse est neutralisée et saturée à l'aide d'un sel minéral, ce qui provoque la précipitation des alcaloïdes.

La dernière étape d) du procédé objet de la présente invention est une chromatographie. Les alcaloïdes obtenus à l'étape c) sont solubilisés dans l'acétone anhydre et la solution obtenue peut être avantageusement filtrée sur alumine basique, ce qui provoque l'élimination des pigments subsistant après l'étape précédente. La solution acétonique incolore est alors concentrée à un volume minimum de l'ordre de 25 ml/kg

d'ergot de seigle de départ, et chargée sur une colonne chromatographique d'alumine acide. L'élution peut être réalisée par l'acétone ou la méthyl-éthyl-cétone contenant des quantités croissantes d'eau, de 0 à 5 %.

5                    Suivant une variante plus avantageuse, l'élution est réalisée par l'acétone ou la méthyl-éthyl-cétone seule, puis par le méthanol seul. Le déroulement de la chromatographie est suivi à l'aide d'un détecteur, suivant les techniques connues.

10                   Pareille séparation conduit à une première fraction chromatographique (A) qui contient les isomères dextrogyres et par exemple l'ergocristine, ainsi qu'à une seconde fraction chromatographique (B), qui contient l'ergo-amine. La fraction (A) est concentrée, titrée et  
15                   additionnée de la quantité d'acide phosphorique nécessaire à la salification de l'ergocristine. Le précipité de phosphate d'ergocristine est isolé par filtration lavé à l'acétone et séché sous vide à 60°C. Le filtrat  
20                   est traité suivant une technique connue pour subir une rétro-isomérisation. Il sera ensuite recyclé à l'étape c). Les alcaloïdes dextrogyres subissant la rétro-isomérisation sont principalement l'ergotaminine, l'ergocristinine, l'ergocryptinine et l'ergocorninine.

25                   La fraction (B) est alors concentrée et l'ergotamine base est cristallisée sous forme de sel suivant le même principe que ci-dessus ou sous forme de base par addition éventuelle d'un non solvant du type éther de pétrole, hexane, et de préférence à l'aide d'heptane, après reprise de l'acétone.

30                   Les alcaloïdes obtenus avec un rendement global supérieur à 70 % ont un degré de pureté de l'ordre de 98 % et sont susceptibles d'être hydrogénés en présence de catalyseurs dans des solvants tels que le dioxanne, le tétrahydrofuranne ou le diméthylformamide  
35                   selon des techniques connues.

Le procédé objet de la présente invention peut également être applicable à la séparation de mélanges ergotamine-ergocornine, ergotamine-ergocryptine, ou ergotamine-ergotoxine, suivant la composition particulière des ergots de seigle utilisés.

Exemple particulier de mise en oeuvre du procédé de l'invention

1 kg de végétal (représentant 4,0 g d'alcaloïdes) finement broyé est additionné de 0,3 litre d'acide tartrique à 2,5 % et épuisé à température ambiante par trois fois 4 litres d'acétate d'éthyle saturé d'eau. Les jus d'extraction sont concentrés à 500 ml, additionnés d'un litre d'heptane et reconcentrés à 500 ml. Les alcaloïdes totaux ainsi précipités sont repris par 1 litre d'acétate d'éthyle saturé d'eau puis extraits par trois fois 1 litre d'acide tartrique à 2,5 %. Les alcaloïdes bases sont précipités de la phase aqueuse par neutralisation et addition de 300 g de chlorure de sodium.

Le précipité alcaloïdique obtenu (3,4 g) séché est repris à l'acétone (400 ml) et filtré sur une colonne contenant 12 g d'alumine basique. Les jus acétoniques, concentrés à 25 ml sont ensuite chromatographiés sur une colonne de 120 g d'alumine acide.

600 ml de méthyl-éthyl-cétone à 1 % d'eau éluent une fraction dans laquelle on précipite, après dosage, le phosphate d'ergocristine par addition stoechiométrique d'acide phosphorique.

150 ml de méthanol éluent une fraction qui est reprise sur 10 ml d'acétone et l'addition de 1 ml d'heptane précipite l'ergotamine base.

A partir des alcaloïdes ainsi obtenus, on peut préparer, selon les méthodes habituelles, les sels d'alcaloïdes conformes aux critères de pureté pharmaceutique.



Bien entendu, la présente invention ne se trouve pas limitée aux modes de mise en oeuvre particuliers décrits, mais il est parfaitement possible sans pour autant sortir du cadre de l'invention d'en imaginer un certain nombre de variantes de détail.

5

RE V E N D I C A T I O N S

1. Procédé de préparation de l'ergotamine et des alcaloïdes du groupe ergotoxine, caractérisé en ce qu'on réalise les opérations successives suivantes :

- 5 a) préparation des sclérotés par broyage d'ergot de seigle (*Claviceps purpurea*) ;  
b) isolement du totum d'alcaloïdes ;  
c) purification des alcaloïdes totaux ; et  
d) séparation chromatographique de l'ergotamine et des autres alcaloïdes lévogyres.

10 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les sclérotés sont broyés de façon à obtenir une granulométrie finale inférieure à 0,5 mm.

15 3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que les sclérotés sont préalablement imprégnés d'eau.

4. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que les sclérotés sont préalablement imprégnés d'une solution aqueuse alcaline assurant simultanément une dépigmentation.

20 5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'on soumet les sclérotés ainsi préparés à une extraction en milieu acide par un solvant au moins partiellement miscible à l'eau.

25 6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le solvant d'extraction est l'acétate d'éthyle.

30 7. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'on ajoute au solvant d'extraction d'environ 1 à 10 % d'une solution aqueuse contenant d'environ 1 à 5 % d'acide.

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que ledit acide est l'acide tartrique.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'isolement du totum d'alcaloïdes est obtenu par précipitation après addition d'un non-solvant.

5 10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le totum d'alcaloïdes est isolé sous forme de sels par précipitation à l'aide d'un hydrocarbure saturé en  $C_6$  ou en  $C_7$ .

10 11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que la purification des alcaloïdes totaux est obtenue par solubilisation dans un solvant non miscible ou partiellement miscible à l'eau, suivie d'une extraction par une solution aqueuse acide et d'une précipitation des alcaloïdes.

15 12. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la séparation de l'ergotamine et des autres alcaloïdes lévogyres est réalisée par chromatographie sur alumine acide.

20 13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que l'élution est réalisée à l'aide d'acétone, de méthyl-éthyl-cétone et/ou de méthanol.

25 14. Procédé selon l'une des revendications 12 et 13, caractérisé en ce que les autres alcaloïdes lévogyres sont précipités de la première fraction chromatographique par addition d'acide phosphorique.

30 15. Procédé selon l'une des revendications 12 et 13, caractérisé en ce que l'ergotamine est cristallisée de la seconde fraction chromatographique sous forme de base ou sous forme de sel, notamment sous forme de tartrate.

35 16. Procédé selon l'une des revendications 12 à 15, caractérisé en ce que, préalablement à la séparation chromatographique, l'on effectue une opération de dépigmentation supplémentaire par filtration sur alumine basique.

- 5 17. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que, dans la première fraction chromatographique, après salification et élimination des alcaloïdes lévogyres, on soumet les alcaloïdes dextrogyres restants à une opération de rétro-isomérisation, puis on procède à un recyclage en vue d'une nouvelle opération de séparation chromatographique sur alumine acide.



Office européen  
des brevets

# RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

0022413

Numéro de la demande

EP 80 40 1033

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl. 3)
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	
	FR - A - 2 089 081 (LEK TOVARNA FARMACEVTSKIH IN KEMICNIH IZDELKOV)  * En entier *	1,2,12	C 07 D 519/02
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl. 3)
			C 07 D 519/02
			CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES
			X: particulièrement pertinent A: arrière-plan technologique O: divulgation non-écrite P: document intercalaire T: théorie ou principe à la base de l'invention E: demande faisant interférence D: document cité dans la demande L: document cité pour d'autres raisons
			&: membre de la même famille, document correspondant
<input checked="" type="checkbox"/> Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
La Haye		29-09-1980	VAN RIJLEN

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**